

9704234



CH 685285 A5

①



CONFÉDÉRATION SUISSE

OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

⑪ CH 685285 A5

⑤① Int. Cl.<sup>6</sup>: A 61 K 38/16  
 A 61 K 38/23  
 A 61 K 38/24  
 A 61 K 38/25

Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein  
 Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

## ⑫ FASCICULE DU BREVET A5

②① Numéro de la demande: 3523/91

②② Date de dépôt: 02.12.1991

②④ Brevet délivré le: 31.05.1995

④⑤ Fascicule du brevet  
publié le: 31.05.1995⑦③ Titulaire(s):  
Debio Recherche Pharmaceutique S.A., Martigny⑦② Inventeur(s):  
Orsolini, Piero, Martigny  
Heimgartner, Frédéric, Villeneuve VD⑦④ Mandataire:  
Micheli & Cie, ingénieurs-conseils, Thônex (Genève)

## ⑤④ Procédé de préparation d'une composition pharmaceutique contenant des sels de peptides.

⑤⑦ On prépare une composition pharmaceutique se présentant sous forme de microparticules ou d'implant comprenant un polymère biodégradable choisi parmi le poly-1,4-butylène-succinate, le poly-2,3-butylène-succinate, le poly-1,4-butylène-fumarate et le poly-2,3-butylènesuccinate, incorporant à titre de substance active un pamoate, tannate, stéarate ou palmitate d'un peptide naturel ou synthétique comprenant de 3 à 45 acides aminés, tel que le LH-RH, la somatostatine, le GH-RH ou la calcitonine ou de l'un de leurs analogues ou homologues synthétiques.

La préparation comprend le mélange à sec des ingrédients, sous forme pulvérulente, la précompression et le préchauffage du mélange suivis d'une extrusion du mélange précomprimé et préchauffé. Le produit résultant de l'extrusion peut être ensuite pulvérisé et finalement tamisé.



CH 685285 A5

## Description

L'invention a pour objet un procédé de préparation d'une composition pharmaceutique se présentant sous forme de microparticules ou d'implant, la composition ainsi obtenue et son utilisation.

L'invention a plus précisément pour objet un procédé de préparation d'une composition pharmaceutique destinée à la libération prolongée et contrôlée de substance médicamenteuse comprenant un copolymère biodégradable de type polyester tel que polysuccinate ou polyfumarate, incorporant à titre de substance active un pamoate, tannate, stéarate ou palmitate d'un peptide naturel ou synthétique, plus particulièrement un peptide comprenant de 3 à 45 acides aminés.

Diverses solutions ont été proposées à ce jour pour la préparation de compositions à libération prolongée et contrôlée de substances médicamenteuses, mettant en œuvre la fabrication d'implants biodégradables, la microencapsulation ou la préparation de matrices poreuses biodégradables se présentant, par exemple, sous forme de microparticules de dimensions diverses. On peut citer à ce propos EP-A 0 052 510 pour la microencapsulation et EP-A 0 058 481 ou US-A 3 976 071 pour la préparation d'implants ou de matrices poreuses biodégradables à base de polylactide ou co-polylactide-glycolide pour l'essentiel, ou encore DE-A 3 835 099.8 concernant des polyesters tels que poly-1,4-butylène succinate ou fumarate, poly-2,3-butylène succinate ou fumarate par exemple. Ces techniques font toutes appel à la dissolution préalable dans un solvant organique, du polymère ou copolymère biodégradable utilisé comme support, le cas échéant à la dissolution de la substance médicamenteuse elle-même. Si, dans de tels cas, la dispersion de la substance active au sein de la masse de polymère biodégradable est satisfaisante, on rencontre toujours le problème des traces de solvant résiduel qui peuvent compromettre l'utilisation de telles compositions à titre thérapeutique. Le choix de solvants peu toxiques ou l'élimination poussée de traces de solvant peut être parfois complexe et coûteux, et peut entraîner une baisse de pureté inacceptable du produit.

Il a été également proposé le mélange à sec, c'est à dire sans solvant, d'une substance protéique (Bovine Serum Albumine) et d'un copolymère biodégradable d'acide lactique et glycolique sous forme pulvérulente, suivi de la compression à la température de fusion du mélange obtenu (J. D. Gresser et al., Biopolymeric Controlled Release System Vol. II, p. 136). Cette technique ne s'est pas avérée satisfaisante, notamment quant à l'homogénéité de la distribution de la substance protéique (BSA) au sein de la masse et, par voie de conséquence, la régularité du relargage de la substance active.

Contre toute attente, il a été trouvé que l'on pouvait parvenir à surmonter ces divers obstacles en partant de polymères biodégradables choisis parmi le poly-1,4-butylène-succinate, le poly-2,3-butylène-succinate, le poly-1,4-butylène-fumarate et le poly-2,3-butylène-fumarate et de peptides naturels ou synthétiques, tels des octa-, nona-, ou décapeptides, plus généralement de peptides comportant de 3 à 45 acides aminés, par la mise en œuvre du procédé de l'invention. On utilise de préférence le poly-1,4-butylène-succinate.

Selon l'invention, on utilise les peptides naturels ou synthétiques sous forme de sels, plus précisément sous forme de pamoates, tannates, stéarates ou palmitates, le pamoate étant utilisé de préférence. On peut noter à ce propos que ces sels de peptides sont insolubles dans l'eau.

Les sels susmentionnés, tout comme les polyesters biodégradables mentionnés ci-dessus sont utilisés sous forme pulvérulente, en fait sous forme de microparticules de dimensions moyennes inférieures à 500 microns environ. De bons résultats ont été obtenus avec des microparticules de polymères de l'ordre de 180 microns ou moins, le sel peptidique pouvant d'une granulométrie encore plus réduite. Le mélange de ces matières s'effectue à sec dans tout appareil approprié, par exemple un moulin à boules, à la température ambiante (env. 25°C) voire à une température inférieure, par exemple 5 à 10°C. Les proportions des constituants pulvérulents peuvent varier de façon étendue, par exemple de 0,1 à 15% en poids de sel peptidique, en fonction des effets thérapeutiques recherchés.

Selon l'invention, une fois le mélange déterminé dûment homogénéisé, celui-ci est soumis à une compression progressive et, simultanément, à un chauffage progressif avant d'être extrudé. Ces deux opérations, de même que le transport du mélange vers la zone de précompression et de préchauffage peuvent être avantageusement réalisées à l'aide d'une vis sans fin, convenablement dimensionnée, le cas échéant à l'aide de deux vis sans fin agissant de façon combinée. Le taux de compression peut varier en fonction de nombreux facteurs tels que la géométrie de l'appareillage ou la granulométrie du mélange pulvérulent. Plus déterminant à maîtriser est le préchauffage et son évolution au fur et à mesure de l'avancement du mélange: fonction de la nature des produits à traiter (polyester, peptide) on s'efforce de maintenir un gradient de température dont le maximum est de l'ordre de 90°C. La température initiale à laquelle est soumise le mélange pulvérulent peut être de 25°C, soit plus soit moins selon les cas.

Le mélange ainsi précomprimé et préchauffé est alors soumis à extrusion, à une température le plus généralement comprise entre env. 90 et 100°C, la limite supérieure de cet intervalle étant dictée par la nature de la substance médicamenteuse (peptide) qu'il convient de ne pas détériorer. L'extrusion peut s'opérer à une pression variant fortement, de 50 à 500 kg/cm<sup>2</sup>, l'essentiel étant de faire jouer température et pression d'extrusion avec la viscosité du produit. Pression et température adéquates favorisent bien entendu la parfaite homogénéisation des ingrédients, en particulier la distribution régulière du sel peptidique au sein de la masse de polymère biodégradable.

L'extrusion proprement dite s'effectue à l'aide d'une buse de forme et dimensions standard, placée en fin de course de la vis sans fin mentionnée plus haut. Le refroidissement du produit extrudé est effectué à l'aide de tout moyen approprié, air ou gaz stérile refroidi ou par simple déperdition de chaleur.

Lorsque le procédé de préparation s'achève à cette étape, on obtient une composition conforme à l'invention se présentant sous la forme d'implant. De tels implants sont tout simplement recueillis en coupant un segment de longueur déterminée du produit sortant de la buse d'extrusion.

La forme dudit implant peut être d'ailleurs dépendante de celle de la buse d'extrusion.

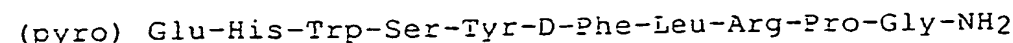
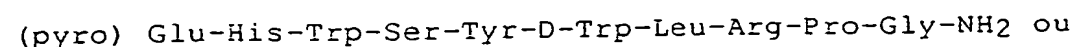
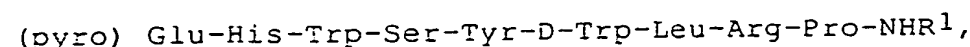
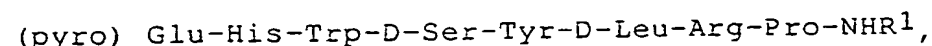
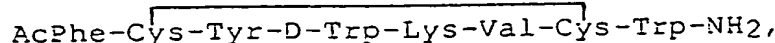
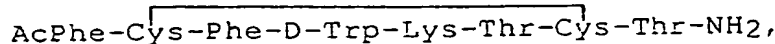
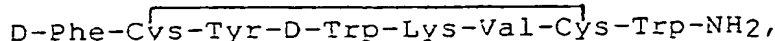
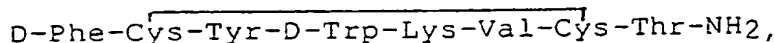
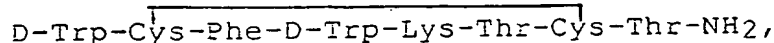
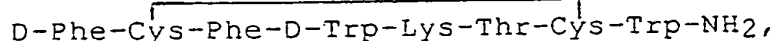
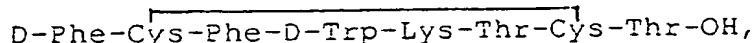
Selon l'une des mises en œuvre de l'invention, le produit d'extrusion convenablement refroidi est alors pulvérisé à basse température, de préférence à une température inférieure à 0°C, voire nettement plus inférieure, -30°C par exemple. On utilise avantageusement la pulvérisation cryogénique, une technique en soi connue. Le produit ainsi pulvérisé est ensuite soumis à un tri des microparticules en fonction de leurs dimensions moyennes, celles de dimension inférieure à 200 microns, de préférence inférieure ou égale à 180 microns étant alors retenues, conformément au procédé de l'invention. Ce tri des microparticules peut être, par exemple, effectué par tamisage. Les microparticules triées et rassemblées sont alors prêtes à l'emploi.

Conformément au procédé de l'invention, les étapes décrites ci-dessus se déroulent successivement, sans temps mort excessif d'une phase à l'autre. L'avantage de ce procédé c'est qu'il peut aussi bien se dérouler en continu toutes les opérations s'enchaînant l'une après l'autre, par simple transfert du mélange traité.

Selon l'invention, à titre de polymère biodégradable, on utilise de préférence un polyester biodégradable constitué de poly-1,4-butylène-succinate. De tels polymères sont aisément préparés conformément à la littérature citée ou peuvent être obtenus auprès du commerce spécialisé.

Les sels de peptides, naturels ou synthétiques, ainsi incorporés au sein de la masse de polymère sont de préférence des sels de peptides comprenant de 3 à 45 acides aminés, plus particulièrement des sels de LH-RH (Luteinizing Hormone - Releasing Hormone), de somatostatine, de GH-RH (Growth Hormone - Releasing Hormone) ou de calcitonine, ou de leurs homologues ou analogues synthétiques.

Plus particulièrement, ce sont des pamoates de LH-RH, ou de somatostatine ou de l'un de leurs homologues ou analogues choisis parmi



(R<sup>1</sup> = alkyle inférieur), cette énumération n'étant pas limitative.

Les microparticules obtenues conformément au procédé de l'invention à partir des ingrédients susmentionnés sont alors utilisées, après une stérilisation adéquate, pour la préparation de suspensions injectables.

Les exemples ci-après illustrent l'invention de façon plus détaillée sans pour autant la limiter.

#### Exemple 1

20 g de poly-1,4-butylène-succinate, (viscosité inhérente env. 0,35 dans HFIP) sous forme de granules de l'ordre de 3 à 5 mm de diamètre ont été premièrement broyés à basse température et tamisés jusqu'à l'obtention de microparticules de dimension moyenne de 500 microns ou moins.

A cette masse pulvérulente on a ajouté 0,445 g de pamoate de D-Trp<sup>6</sup>-LH-RH (formule du peptide): (pyro) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>

finement pulvérisé. Ce produit se présente sous forme de microparticules de dimension de 10 microns environ et de structure amorphe. Le mélange résultant a été homogénéisé à température ambiante, dans un moulin.

Le mélange homogénéisé a ensuite été placé dans un appareil muni d'une vis sans fin accouplée à une buse d'extrusion conventionnelle. La vis sans fin peut avoir une longueur de 25 cm environ et un diamètre de 1,5 cm environ. Elle comporte une première zone servant exclusivement au déplacement du mélange, voisine d'une seconde zone réservée à la compression et au préchauffage.

Tout au long de son parcours, le mélange est porté de 25 à environ 90°C, la vitesse de déplacement étant adaptée pour que cette phase soit de l'ordre de 5 min. environ. L'extrusion proprement dite a lieu à 98°C, la buse d'extrusion comportant un orifice de l'ordre de 1,0 mm de diamètre.

Les filaments ainsi obtenus sont ensuite laissés à refroidir à température ambiante, coupés en petites portions et finalement broyés à -30°C. Après tamisage, on recueille les microparticules de dimension moyenne de 180 microns ou moins.

L'analyse chimique effectuée sur des échantillons de produit extrudé et broyé confirme la parfaite homogénéité de la dispersion de la substance active au sein de la masse de polymère.

Les microparticules obtenues ci-dessus ont été soumises à une stérilisation par rayons gamma et mises ensuite en suspension dans un véhicule stérile approprié.

Les tests in vivo (dosage du taux de testostérone sanguin chez des souches de rats mâles) confirment la libération régulière de la substance active sur au moins 25 jours, ce qui se traduit par un effondrement du taux de testostérone à des valeurs de castration.

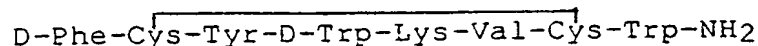
#### Exemple 2

On a procédé conformément à l'Exemple 1, pour préparer des microparticules de poly-1,4-butylène-succinate (i.v. environ 0,35) contenant, à un dosage comparable, un pamoate de l'un des décapeptides suivants:

(pyro) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Phe-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>  
(pyro) Glu-His-Trp-D-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NR<sup>1</sup>, ou  
(pyro) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Tyr-Leu-Arg-Pro-NHR<sup>1</sup>  
(R<sup>1</sup>) = éthyle

#### Exemple 3

On a procédé conformément à l'Exemple 1, partant de 18 g de poly-1,4-butylène-succinate (i.v. environ 0,35) et 2,85 g de pamoate d'un analogue de la somatostatine - formule du peptide:



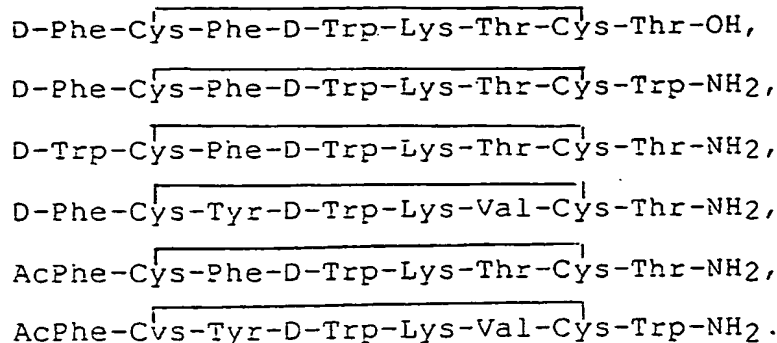
pour obtenir des microparticules présentant la granulométrie souhaitée.

L'analyse chimique effectuée sur des échantillons de produit extrudé et broyé confirme la parfaite homogénéité de la dispersion de la substance active au sein de la masse copolymère.

Les tests in vivo, en outre, confirment la libération contrôlée de la substance active (analogue de somatostatine) sur une période d'au moins 7 jours.

#### Exemple 4

On a procédé comme à l'Exemple 3, pour obtenir des microparticules de poly-1,4-butylène-succinate contenant à un dosage comparable, un pamoate de l'un des octapeptides suivants:



L'analyse chimique effectuée sur des échantillons de produit extrudé et broyé confirme la parfaite homogénéité de la dispersion de la substance active au sein de la masse de copolymère.

Au cours des expérimentations décrites ci-dessus, il a été observé que les filaments extrudés, une fois coupés en bâtonnets de longueur appropriée, pouvaient être directement utilisés comme implants, après stérilisation. De tels implants assurent également la libération prolongée et contrôlée de la substance active.

#### Revendications

1. Procédé de préparation d'une composition pharmaceutique destinée à la libération prolongée et contrôlée de substance médicamenteuse comprenant un polymère biodégradable choisi parmi le poly-1,4-butylène-succinate, le poly-2,3-butylène-succinate, le poly-1,4-butylène-fumarate et le poly-2,3-butylène fumarate, incorporant à titre de substance active un pamoate, tannate, stéarate ou palmitate d'un peptide naturel ou synthétique, caractérisé en ce que

a) on mélange à sec le polymère biodégradable et la substance active choisi, présents tous deux sous forme de microparticules de dimension moyenne inférieure à 500 microns;

b) on comprime progressivement et chauffe progressivement jusqu'à 90°C le mélange pulvérulent obtenu; et

c) on soumet le mélange précomprimé et préchauffé à extrusion à une température comprise entre 90 et 100°C, puis refroidit le produit extrudé.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'on met le produit extrudé sous la forme d'un implant.

3. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que on pulvérise ensuite à basse température le produit extrudé, puis on sélectionne et finalement on recueille les microparticules obtenues.

4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que la pulvérisation du produit extrudé est une pulvérisation cryogénique.

5. Procédé selon la revendication 3 ou la revendication 4, caractérisé en ce que la sélection des microparticules résultant de la pulvérisation s'effectue par tamisage.

6. Procédé selon l'une des revendications 3 à 5, caractérisé en ce que les microparticules de polymère biodégradable présentent une dimension moyenne inférieure ou égale à 200 microns, de préférence inférieure ou égale à 180 microns.

7. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la précompression et le préchauffage du mélange s'effectuent simultanément, à l'aide d'une ou plusieurs vis sans fin.

8. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'extrusion s'effectue à une pression comprise entre 50 et 500 kg/cm<sup>2</sup>.

9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que la substance active est un pamoate, tannate, stéarate ou palmitate d'un peptide naturel ou synthétique comprenant de 3 à 45 acides aminés, notamment de LH-RH, de somatostatine, de GH-RH ou de calcitonine.

10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que la substance active est un pamoate de LH-RH, de somatostatine ou de l'un de leurs analogues ou homologues synthétiques choisis parmi

D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-OH,

5

D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Trp-NH<sub>2</sub>,

10

D-Trp-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH<sub>2</sub>,

D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH<sub>2</sub>,

15

D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Trp-NH<sub>2</sub>,

20

AcPhe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH<sub>2</sub>,

AcPhe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Trp-NH<sub>2</sub>,

25

(pyro) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>,

30

(pyro) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Phe-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>,

35

(pyro) Glu-His-Trp-D-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NHR<sup>1</sup>, ou

(pyro) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-NHR<sup>1</sup>

40

R<sup>1</sup> = alkyle inférieur.

11. Composition pharmaceutique obtenue au moyen du procédé selon l'une des revendications 1 à 10.

45

50

55

60

65